

Prowadzone badania w różnych mikroorganizmach ujawniły istnienie rozbudowanych sieci regulacyjnych, kaskadowych zależności, współzależności na poziomie kontroli ekspresji genów z udziałem transkrypcyjnych regulatorów. Wiele białek wciąż pozostaje klasyfikowanych jako hipotetyczne regulatory transkrypcji o niejasnej funkcji komórkowej, niepotwierdzonej eksperymentalnie. Wyjaśnienie ich udziału w regulacji ekspresji genów, adaptacji organizmów ogromnie przyczyniłoby się do zrozumienia złożonego systemu, jakim jest organizm bakteryjny. Szczególnie ważne jest poznanie biologii patogenów i ich możliwości adaptacyjnych.

Obiektem badań w proponowanym projekcie jest bakteria *Pseudomonas aeruginosa* (pałeczka ropy błkitnej), oportunistyczny patogen człowieka będący przyczyną zakażeń szpitalnych u pacjentów o obniżonej odporności immunologicznej. Bakteria ta charakteryzuje się zdolnością do przetrwania w bardzo niekorzystnych, zmiennych warunkach środowiskowych. Zdolność do zawdzięczenia genomowi kodującemu ogromny repertuar czynników warunkujących przeżycie i przystosowanie się do określonej niszy oraz rozbudowaną sieć regulacyjną umożliwiającą szybkie reagowanie na bodźce dochodzące ze środowiska. Uderzająca jest zaskakująca liczba kodowanych przez genom *P. aeruginosa* PAO1 regulatorów transkrypcji (około 500) czy regulatorowych systemów dwuskładnikowych (ponad 120). Mimo badań prowadzonych przez wiele zespołów, ponad 30% genomu *P. aeruginosa* pozostaje annotowane jako geny hipotetyczne, nieznanne.

Białka ParA i ParB kodowane są przez wirusowe genomów bakteryjnych i biorą udział w prawidłowym rozdziale chromosomów do komórek potomnych. Nasze badania w *P. aeruginosa* potwierdziły udział białek ParA/ParB w kondensacji noworeplikowanego chromosomu, prawidłowym przemieszczaniu się domen orientacji chromosomów do przeciwległych biegunów komórki. Wykazano także, że oddziaływanie białek ParA/B z DNA w trakcie cyklu komórkowego bierze udział bezpośrednio lub pośrednio w regulacji ekspresji genów. Wśród genów zależnych od ParA/ParB jest 9 genów kodujących znane globalnie i lokalnie działające regulatory transkrypcji, a także 20 genów kodujących potencjalne, przypuszczalne, hipotetyczne regulatory transkrypcyjne, klasyfikowane na podstawie analiz *in silico*.

Celem przedkładanego projektu jest charakterystyka funkcjonalna sześciu wybranych, potencjalnych transkrypcyjnych regulatorów PA1196, PA2121, PA2577, PA3027, PA3458, PA3973 z regulonu ParA/ParB *P. aeruginosa*. Hipoteza badawcza zakłada istnienie kaskadowej sieci regulacyjnej w *P. aeruginosa*, w której nadrzędne role pełni białka partycyjne, kontrolujące ekspresję typowanych do analiz transkrypcyjnych regulatorów. One z kolei zaangażowane mogą być w regulację ekspresji pojedynczych genów, operonów lub/i regulacji o charakterze globalnym. Stwarza to możliwość korelowania procesów kontrolowanych przez poszczególne transkrypcyjne regulatory z cyklem komórkowym *P. aeruginosa*. Z wybranych do badań potencjalnych transkrypcyjnych regulatorów jeden jak dotąd nie był charakteryzowany i co interesujące kaody należą do innej rodziny prokariotycznych regulatorów transkrypcji (typu NtrC/NifA, LysR, AsnC, AraC, MarR, TerR). Ustalenie sposobu działania tych transkrypcyjnych regulatorów, procesów od nich zależnych, funkcji pełnionych w komórkach i udziału w sieci zależności regulacyjnych w *P. aeruginosa* rozszerzy naszą wiedzę o biologii tego ważnego organizmu modelowego. Cenne z punktu widzenia zrozumienia systemu biologicznego oportunistycznego patogena, jakim jest *P. aeruginosa*, będzie zdefiniowanie potencjału regulacyjnego badanych transkrypcyjnych regulatorów w jego cyklu życiowym.

Szczegółowa analiza wykorzystująca kombinację metod genetycznych, wysoko-przepustowych analiz genomowych (RNA-seq, CHIP-seq), biochemicznych i badań strukturalnych powiązana z wykorzystaniem narzędzi biologii systemów, pozwoli ustalić rolę badanych regulatorów transkrypcji w komórkach *P. aeruginosa* i procesy od nich zależne. Przeprowadzone badania określą czy charakteryzowane białka należą do regulatorów odpowiedzialnych za kontrolę zdefiniowanych ścieżek metabolicznych i tym samym należą do „lokalnych regulatorów”, czy będą to globalne regulatory koordynujące ekspresję wielu genów, operonów. Ważne będzie określenie czy badane transkrypcyjne regulatory zależą lub/i współdziałają z innymi sieciami regulacyjnymi *P. aeruginosa*.

Wiedza zdobyta w proponowanym projekcie z wykorzystaniem *P. aeruginosa*, jako organizmu modelowego o prostym cyklu komórkowym, może pomóc w charakterystyce funkcjonalnej transkrypcyjnych regulatorów nie tylko w tej bakterii, ale również w innych bakteriach patogennych, gdzie homologi badanych białek występują. Uzyskana wiedza poza niezaprzeczalnym walorem poznawczym dla tak ważnego z medycznego punktu widzenia obiektu badań, jakim jest *P. aeruginosa*, dostarczy istotnych informacji do określenia wzajemnych interakcji białko-DNA, a więc o szerokim znaczeniu biologicznym.